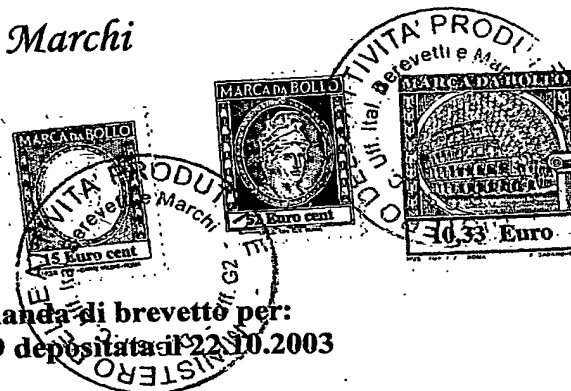


# Ministero delle Attività Produttive

*Direzione Generale per lo Sviluppo Produttivo e la Competitività*

*Ufficio Italiano Brevetti e Marchi*

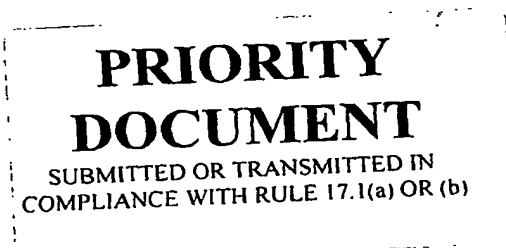
*Ufficio G2*



**Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per:  
INVENZIONE INDUSTRIALE N.MI 2003 A 002059 depositata il 22.10.2003**

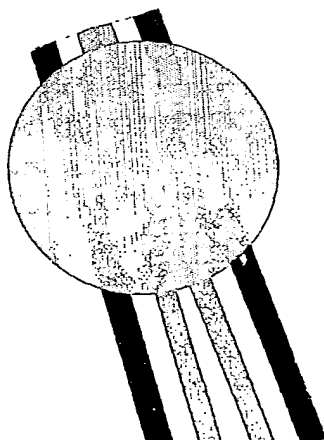
Si dichiara che l'unita copia è conforme ai documenti originali depositati con la domanda di brevetto sopra specificata, i cui dati risultano dall'accluso processo verbale di deposito.

ROMA li....2.0.SET.2004.....



IL FUNZIONARIO

*Paola Giuliano*  
D.ssa Paola Giuliano



**UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI - ROMA**  
**DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE, DEPOSITO RISERVE, ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO**

R-15C.0GT.T0

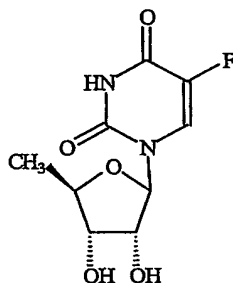
DATA DI DEPOSITO 22/10/2003  
DATA DI RILASCIO 11/11/2003

**D. TITOLO**

Processo per la preparazione di doxifluridina.

## L. RIASSUNTO

**Viene descritto un processo per la preparazione di Doxifluridina di formula**



(I)

ad elevate rese e ridotta formazione d'impurezze, che comprende la reazione d'accoppiamento di un composto di formula (III) con un composto di formula (IV), così come definiti nella descrizione, in presenza di un acido di Lewis e in un solvente organico inerte, caratterizzato dal fatto che l'aggiunta di detto acido di Lewis viene effettuata ad una temperatura inferiore a 0°C.

## M. DISEGNO



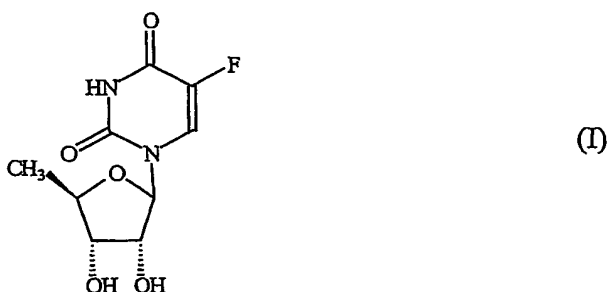
DESCRIZIONE dell'invenzione industriale a nome CLARIANT Life Science Molecules (Italia) Spa con sede in Origgio (VA).

\*\*\*\*\*

La presente invenzione si riferisce ad un processo per la preparazione di Doxifluridina e, più in particolare, ad un processo di preparazione caratterizzato da elevate rese e ridotta formazione d'impurezze.

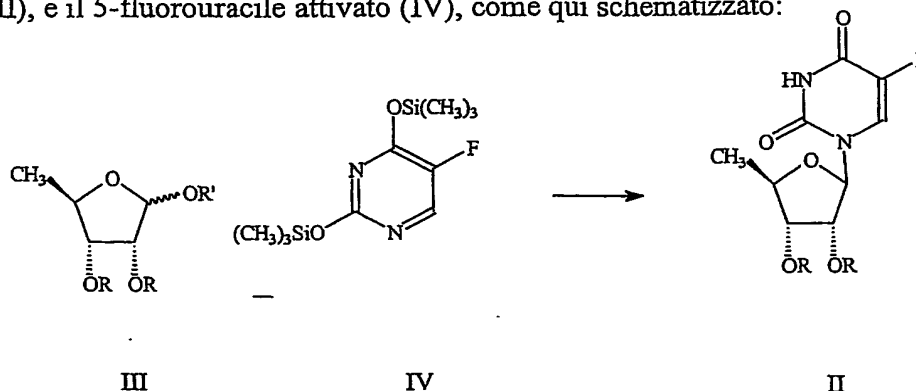
### STATO DELL'ARTE

La Doxifluridina, o 5'-deossi-5-fluorouridina è un composto noto ad attività anticitostatica, correntemente utilizzato come antitumorale (Merck Index n. 3471, 13<sup>a</sup> Ed. 2001), di formula I:



Sono noti diversi processi per l'ottenimento della Doxifluridina e, tra questi, quello descritto ad esempio nel brevetto statunitense US4340729 è di particolare rilievo nel presente contesto.

Questo brevetto, infatti, riporta un processo di ottenimento della Doxifluridina che comprende sostanzialmente la reazione d'accoppiamento tra un derivato del ribosio modificato in 5' ed opportunamente protetto (III), e il 5-fluorouracile attivato (IV), come qui schematizzato:



OK

Tale reazione di accoppiamento (col. 3, righe 27-36) avviene in presenza di un acido di Lewis, quale trimetilsililtrifluorometansolfonato o stagno tetracloruro, in un solvente organico inerte, a temperatura ambiente o inferiore, preferibilmente raffreddando in ghiaccio.

La parte sperimentale descrive (col. 5, righe 34-60) in particolare, la reazione d'accoppiamento tra 5-desossi-1,2,3-tri-O-acetil-D-ribofuranoside (III,  $R=R'=acetile$ ) e 2,4-bis(trimetilsilil)-5-fluorouracile, catalizzata da trimetilsililtrifluorometansolfonato, condotta alla temperatura di un bagno di ghiaccio.

Tuttavia, la reazione così come descritta nel brevetto statunitense non è del tutto soddisfacente, specie in previsione di un suo utilizzo su larga scala.

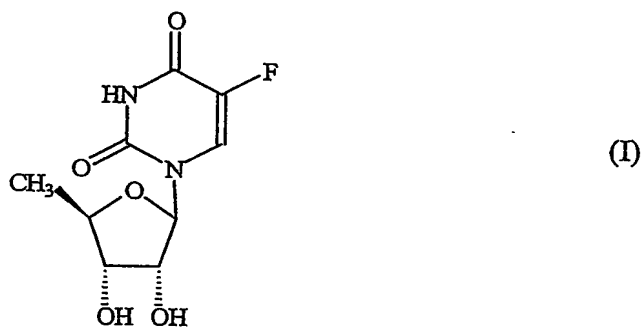
Infatti, sia ripetendo la stessa reazione in presenza di trimetilsililtrifluorometansolfonato e sia impiegando, in alternativa, stagno tetracloruro come catalizzatore si osserva la formazione di un'impurezza in quantità significative, impurezza che comporta, innanzitutto, una riduzione delle rese e, inoltre, complica le procedure d'isolamento e purificazione del prodotto finale. Questa reazione collaterale, che si verifica già nelle condizioni riportate da US4340729, è particolarmente accentuata se si catalizza la reazione con stagno tetracloruro: in questo caso, infatti, si ottiene una miscela di reazione molto complessa dove il sottoprodotto di difficile eliminazione rappresenta circa l'11% della miscela stessa mentre il prodotto desiderato (II,  $R=acetile$ ) arriva al massimo ad un 70%, calcolato in area (HPLC) (vedi Tabella 1).

Abbiamo ora sorprendentemente trovato che è possibile aumentare significativamente le rese di questa reazione d'accoppiamento e ridurre la

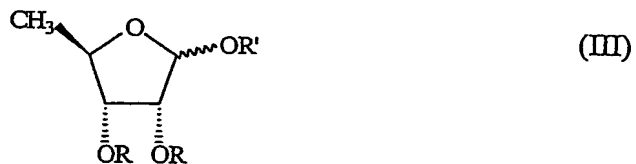
formazione di sottoprodotti, in modo semplice e applicabile industrialmente, consentendo così l'isolamento del prodotto grezzo senza eccessive manipolazioni e ad una purezza tale da poter essere direttamente usato per la successiva fase di deprotezione. E' evidente, per l'esperto del ramo, che questa semplificazione si traduce in una riduzione importante sia dei tempi e sia dei costi del processo quando applicato su scala industriale.

#### DESCRIZIONE DELL'INVENZIONE

Costituisce pertanto l'oggetto della presente invenzione un processo per la preparazione di Doxifluridina di formula



che comprende la reazione d'accoppiamento di un composto di formula

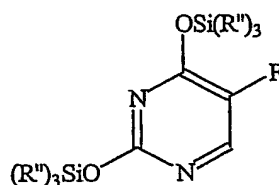


in cui

R rappresenta un acile alifatico lineare o ramificato C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> oppure benzoile, eventualmente sostituito con alchili C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>, alcossili C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> o alogeni,

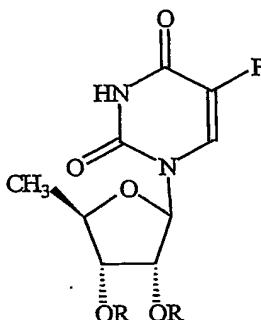
R' rappresenta R oppure un alchile lineare o ramificato C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>, essendo R e R' uguali o diversi tra loro,

con un composto di formula



in cui

$R''$ , uguali o diversi tra loro, rappresentano un alchile  $C_1-C_6$  o un fenile, in presenza di un acido di Lewis e in un solvente organico inerte a dare il composto di formula



in cui R assume i significati sopra riportati,

caratterizzato dal fatto che l'aggiunta di detto acido di Lewis viene effettuata ad una temperatura inferiore a  $0^{\circ}\text{C}$ , preferibilmente inferiore a  $-10^{\circ}\text{C}$ , più preferibilmente tra  $-15$  e  $-20^{\circ}\text{C}$  circa.

Preferibilmente la miscela di reazione, terminata l'aggiunta del catalizzatore, viene poi mantenuta alla stessa temperatura per un tempo variabile, preferibilmente per almeno circa 2 ore, più preferibilmente almeno circa 4 ore.

I composti di partenza di formula III, in cui R e  $R'$  rappresentano preferibilmente acile, più preferibilmente acetile, e IV, in cui i  $R''$  sono preferibilmente uguali tra loro e rappresentano preferibilmente metile,



ex

possono essere preparate secondo processi noti, ad esempio come descritto in US4340729.

L'acido di Lewis utilizzato è preferibilmente trimetilsililtrifluoro metansolfonato oppure stagno tetracloruro, più preferibilmente stagno tetracloruro.

Solventi organici inerti preferiti secondo la presente invenzione sono solventi clorurati, preferibilmente cloruro di metilene, oppure solventi aromatici, preferibilmente toluene, più preferibilmente i solventi clorurati.

Il prodotto d'accoppiamento II della presente reazione, in cui R rappresenta preferibilmente acile, più preferibilmente acetile, può essere poi sottoposto direttamente alle opportune reazioni di deprotezione note per la rimozione degli specifici gruppi proteggenti prescelti, ad esempio come descritto in US4340729, a dare Doxifluridina.

Secondo una realizzazione preferita della presente invenzione, ad una miscela del composto di formula IV, in cui R''=metile, e del composto di formula III, in cui R=R'=acetile, in un solvente clorurato, raffreddata ad una temperatura inferiore a -10°C, si aggiunge lo stagno tetracloruro e si mantiene la miscela sotto agitazione a quella temperatura per almeno 2 ore, eventualmente lasciando poi a reagire la miscela per una notte a temperatura ambiente.

Allo scopo di meglio illustrare la presente invenzione vengono ora forniti i seguenti esempi

#### PARTE SPERIMENTALE

##### ESEMPIO 1

Preparazione di 2',3'-diacetil-5'-desossi-5-fluorouridina (II, R=acetile)



CS

## A) Preparazione secondo l'invenzione

Si sospende il 5-fluorouracile (65 g), trimetilclorosilano (48 ml) ed esametildisilazano (76 ml) in cloruro di metilene (520 ml) e si scalda la miscela di reazione a riflusso per 4 ore. Si raffredda a 20-25°C la sospensione così ottenuta e si aggiunge 5-deossi-1',2',3'-triacetil-D-ribosio (130 g). Si raffredda la miscela di reazione a -20/-15°C e si aggiunge lentamente (in circa 2 ore) lo stagno tetracloruro (58 ml) mantenendo la temperatura tra -20°C e -15°C. Si agita la miscela di reazione tra -20°C e -15°C per almeno 4 ore, quindi si lascia salire lentamente la temperatura da -20/-15°C a 20°C durante la notte sotto agitazione.

Si raffredda quindi la miscela a 0/5°C e si gocciola lentamente a questa temperatura una soluzione di acido cloridrico concentrato 36% (200 ml) in acqua (1300 ml). Si separano le due fasi e si estrae la fase acquosa due volte con cloruro di metilene (2x250 ml). Si trattano le fasi organiche riunite con acqua (1000 ml) e si aggiunge bicarbonato di sodio (circa 12 g) sino a pH 7. Si separano le due fasi e si secca la fase organica su solfato di magnesio (5 g). Dopo filtrazione del solfato di magnesio, si concentra la fase organica a pressione ridotta e si sottopone il residuo così ottenuto direttamente alla fase successiva di deprotezione.

## B) Preparazione secondo le condizioni descritte da US4340729

La reazione è stata ripetuta sulle stesse quantità e con gli stessi reagenti sopra descritti, modificando però la temperatura di aggiunta dello stagno tetracloruro alla miscela da -20/-15°C a 0/+15°C (bagno di ghiaccio).

I risultati delle due prove, analizzati mediante HPLC (Colonna Zorbax SB-AQ 100 x 4,6 – 3,5 µm; Fase mobile A: tampone ammonio acetato in acqua

e8

6,0 grammi/litro con pH corretto a 5,6 con acido acetico; Fase mobile B: Acetonitrile-Metanolo-Acqua 45:45:10; flusso 0,8 ml/min; detector 280 nm; gradiente tempo zero 98% fase A, tempo 2 minuti 98% fase A, tempo 20 minuti 35% fase A) sono riportati nella seguente Tabella 1:

Tabella 1

Esempio	Temperatura	Composizione della miscela di reazione (area % HPLC)			
		5-fluoro uracile	II	Impurezza principale	Rapporto II:impurezza
1A	-20/-15°C	8%	90%	1%	90 : 1
1B	0/15°C	11%	70%	11%	6,4 : 1

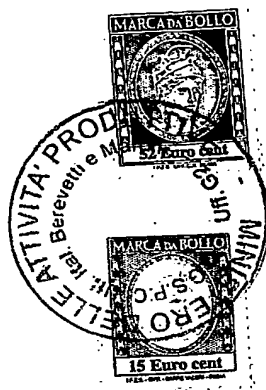
Come si può osservare la reazione effettuata secondo la presente invenzione (1A) mostra una sorprendente diminuzione dell'impurezza principale (tempo di ritenzione 23,8 minuti) da 11% a 1% e, contemporaneamente, un aumento significativo del prodotto desiderato II, da 70% a 90%, rispetto alla reazione condotta nelle condizioni descritte nell'arte nota (1B).

#### Preparazione Doxifluridina (I)

Si scioglie il residuo grezzo di 2',3'-diacetil-5'-desossi-5-fluorouridina (II, R=acetile), ottenuto come sopra descritto, in metanolo (100 ml) e si evapora il solvente a pressione ridotta. Si scioglie quindi il residuo in metanolo (1500 ml) e si aggiunge una soluzione al 25% di sodio metossido in metanolo (98 g). Si agita la miscela di reazione a 20-25°C per 3 ore, quindi si aggiunge acido cloridrico concentrato 36% (circa 50 ml) senza superare i 10°C sino a pH 4.0/4.2. Si evapora a pressione ridotta il solvente e si scioglie il residuo in isopropanolo (2x150 ml), quindi si rievapora il



solvente a pressione ridotta. Si ripete quest'operazione due volte, quindi si scioglie il residuo in isopropanolo (3600 ml) e si scalda la sospensione a riflusso. Si filtrano a caldo i sali rimasti indisciolti e si concentra a 50°C e a pressione ridotta la soluzione sino a circa 2400 ml. Si raffredda la sospensione così ottenuta a 0/5°C e la si agita a questa temperatura per un'ora. Si filtra il solido, lo si lava con isopropanolo freddo (200 ml) ottenendo dopo essiccamento a 50°C, 91 g di Doxifluridina pura (resa molare sui due passaggi 74%).



## ESEMPIO 2

### Preparazione di 2',3'-diacetil-5'-desossi-5-fluorouridina (II, R=acetile)

Seguendo la procedura descritta nell'esempio 1, ma utilizzando trimetilsililtrifluorometansolfonato come catalizzatore, sono state ripetute le reazioni di accoppiamento secondo l'invenzione (-20/-15°C) (2A) e secondo US4340729 (0/+15°C) (2B). Analogamente all'esempio 1 le reazioni sono state monitorare a tempi successivi mediante HPLC, nelle medesime condizioni. Dopo due ore di reazione i rapporti tra le aree HPLC del prodotto desiderato (II, R=acetile) rispetto all'impurezza (r.t.=23,8 minuti) presentavano i seguenti valori:

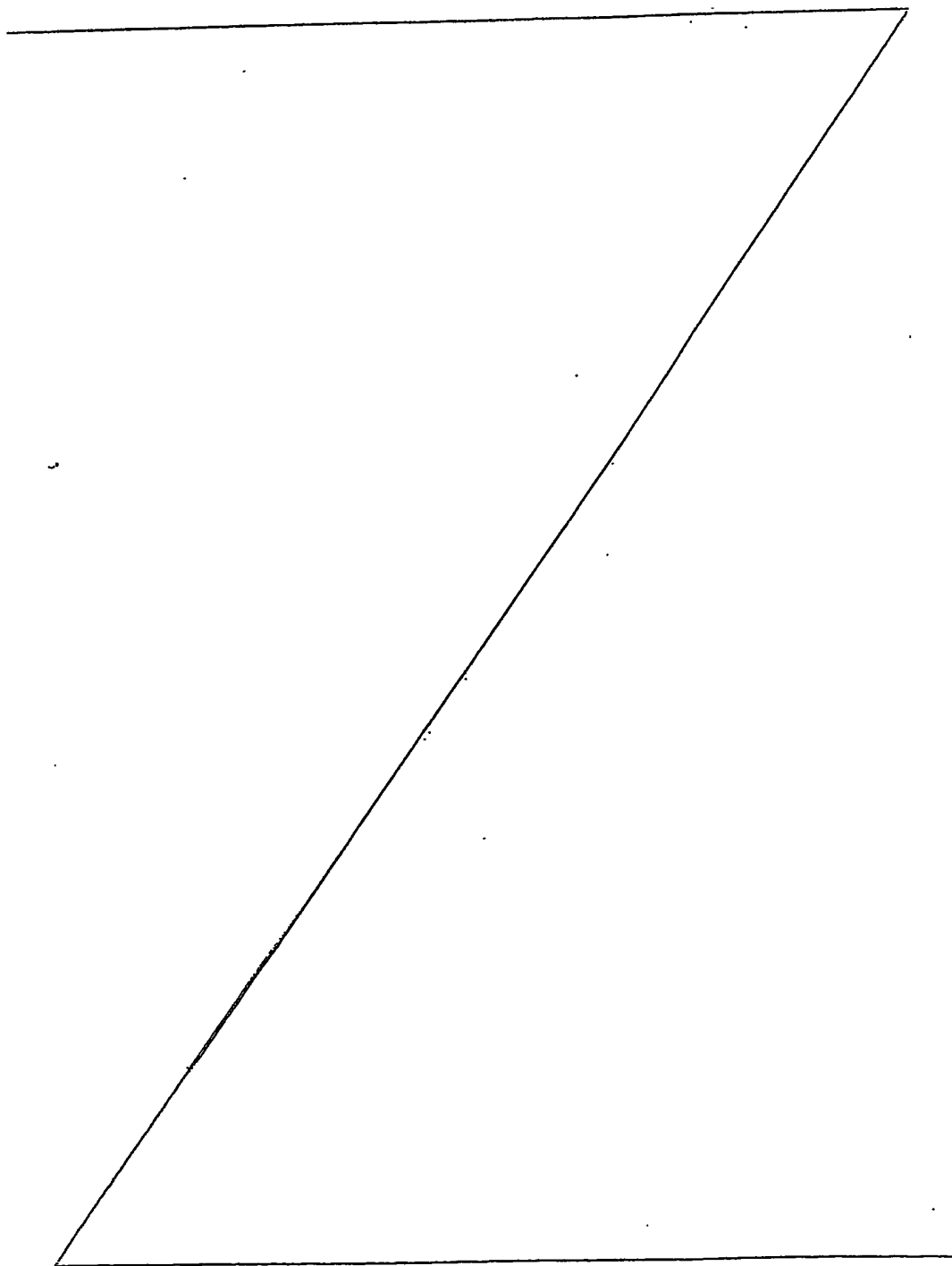
Tabella 2

Prova	Temperatura	Rapporto 2',3'-diacetil-5'-desossi-5-fluorouridina : impurezza
2A	-20/-15°C	10:1
2B	0/15°C	3,4:1

Anche in questo caso si conferma il sorprendente miglioramento ottenuto

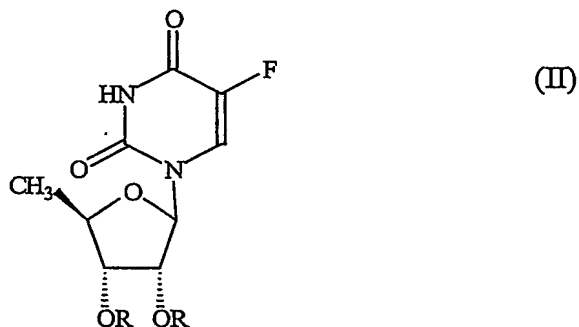
e8

con la presente invenzione, in termini di riduzione della formazione dell'impurezza, rispetto a quanto descritto nell'arte nota.



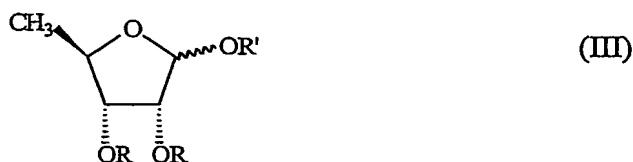
## RIVENDICAZIONI

1. Un processo per preparare un composto di formula



in cui

R rappresenta acile alifatico lineare o ramificato  $C_1-C_5$  oppure benzoile, eventualmente sostituito con alchili  $C_1-C_5$ , alcossili  $C_1-C_5$  o alogeni, che comprende la reazione di accoppiamento di un composto di formula

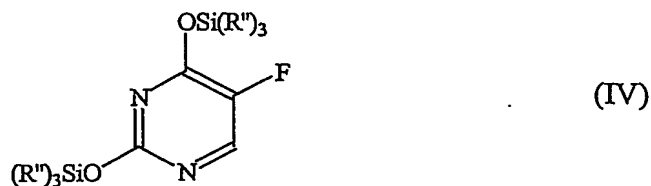


in cui

R rappresenta un acile alifatico lineare o ramificato  $C_1-C_5$  oppure benzoile, eventualmente sostituito con alchili  $C_1-C_5$ , alcossili  $C_1-C_5$  o alogeni,

R' rappresenta R oppure un alchile lineare o ramificato  $C_1-C_5$ ,

con un composto di formula



in cui

R'', uguali o diversi tra loro rappresentano un alchile C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o un fenile, in presenza di un acido di Lewis e in un solvente organico inerte caratterizzato dal fatto che l'aggiunta di detto acido di Lewis viene effettuata ad una temperatura inferiore a 0°C.

2. Un processo secondo la rivendicazione 1 in cui detta aggiunta di catalizzatore viene effettuata ad una temperatura inferiore a -10°C, preferibilmente tra -15 e -20°C circa.

3. Un processo secondo la rivendicazione 1 in cui terminata detta aggiunta di catalizzatore, la miscela di reazione viene ulteriormente mantenuta alla stessa temperatura.

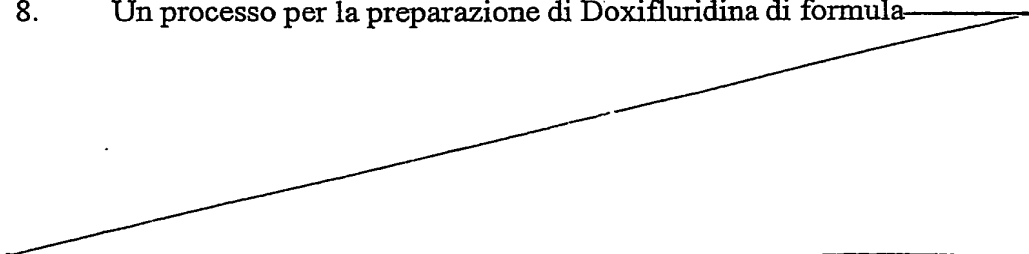
4. Un processo secondo la rivendicazione 1 in cui R e R' rappresentano acile, preferibilmente acetile, e R'' rappresenta metile.

5. Un processo secondo la rivendicazione 1 in cui detto acido di Lewis è scelto tra trimetilsililtrifluorometansolfonato e stagno tetracloruro, preferibilmente è stagno tetracloruro.

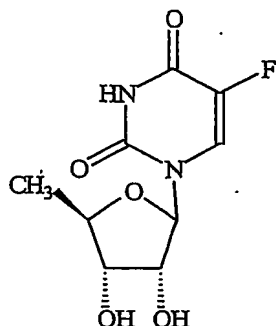
6. Un processo secondo la rivendicazione 1 in cui detto solvente organico inerte è scelto tra solventi clorurati oppure solventi aromatici, preferibilmente solventi clorurati.

7. Un processo secondo la rivendicazione 1 in cui detto composto di formula II, in cui R ha i significati sopra riportati, viene ulteriormente sottoposto a reazione di deprotezione per dare Doxifluridina di formula I.

8. Un processo per la preparazione di Doxifluridina di formula



CB



(I)

che comprende un processo secondo una delle rivendicazioni da 1 a 7.

Il Mandatario

Dr.ssa Cristina Fraire

Della Dragotti & Associati Srl

(Iscr. Albo No. 933B)

CF/ac

*Cristina Fraire*

